

基于中药乙醇提取物的柑橘采后保鲜与抑菌技术*

任艳芳 刘 畅 何俊瑜 王思梦 张兰兰

(贵州大学农学院, 贵阳 550025)

【摘要】以意大利青霉、指状青霉、柑橘链格孢为供试菌种,采用生长速率法对30种中药的乙醇提取物进行离体抑菌试验,并将抑菌效果最好的黄连醇提取物用于奥林达夏橙的活体防效和贮藏保鲜试验,结果表明:30种中药醇提取物对3种病原菌菌丝生长产生不同的作用效果,其中黄连抑菌效果最好,达到100%,与咪鲜胺相比无显著差异($P>0.05$),其最小抑菌质量浓度为0.025 g/mL;防效试验第10天时,黄连醇提液对3种真菌孢子混合液的防治效果仍高达90.87%,与咪鲜胺处理无显著差异($P>0.05$);保鲜试验进一步表明黄连醇提液能有效降低夏橙果实腐烂和霉变的发生,提高好果率,减少果实中可滴定酸和维生素C损失,与咪鲜胺处理相比,无显著差异($P>0.05$)。

关键词: 柑橘 中药乙醇提取物 抑菌 贮藏

中图分类号: S432; R284 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2012)05-0122-08

Fresh-keeping and Antibacterial Technology of Citrus Fruits
Based on Ethanol Extracts from Chinese Herbs

Ren Yanfang Liu Chang He Junyu Wang Simeng Zhang Lanlan

(College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract

The plant resources with inhibitory effect on postharvest pathogenic fungi from citrus fruits were screened so as to provide the theoretical basis for the development of botanical fungicide. The experiments investigated inhibitory effects in vitro with 30 kinds of ethanol extracts from Chinese herbs against *P. italicum*, *P. digitatum* and *Alternaria. citri* by using mycelial growth rate method, and control effects in vivo and storage effects of Valencia orange with *Coptis chinensis* ethanol extracts. The results showed that 30 kinds of Chinese herbs ethanol extracts have different effects on mycelial growth of three citrus pathogens, and *Coptis chinensis* ethanol extracts exhibited the best antifungal effect which reached up to 100%. However, no difference was found between Prochloraz treatment and *Coptis chinensis* treatment ($P>0.05$). Minimum inhibitory concentration (MIC) of *Coptis chinensis* ethanol extracts is 0.025 g/mL. Control test showed that the control effect of *Coptis chinensis* ethanol extracts against the mixtures of three kinds of spores achieved 90.87% after 10 d of treatment, and there was no significant difference ($P>0.05$) between *Coptis chinensis* treatment and Prochloraz treatment. Preservation test indicated that *Coptis chinensis* ethanol extracts could obviously decrease the incidence of rotting rate and molding of Valencia orange fruits, increase the good fruit rate, and retard the losses of titratable acidity and vitamin C in fruits. Compared with Prochloraz treatment, there was no difference ($P>0.05$). These results indicated that in vitro experiments, control effect and preservation test exhibited a good antifungal effect with *Coptis chinensis* ethanol extracts. Therefore, *Coptis chinensis* ethanol extracts may have a possibility to replace chemical fungicides and a new pesticide can be developed.

Key words Citrus, Ethanol extracts from Chinese herb, Antibacterium, Preservation

收稿日期: 2011-07-22 修回日期: 2011-09-13

* 贵州省农业科技攻关资助项目(NY20083021)

作者简介: 任艳芳,副教授,博士,主要从事果品采后生理与贮藏保鲜研究,E-mail: gzdx2006@126.com

引言

果蔬贮运病害是影响果蔬贮运质量、缩短贮藏期和货架期、造成大量腐烂和损失的主要原因之一。据估计,发达国家每年有 20% ~ 25% 采后果蔬损失来自于病原菌的侵害,而发展中国家更为严重^[1]。目前,化学合成的保鲜剂虽然能够达到防腐保鲜的目的,但其对人体健康有不利影响,由此带来的负面影响非常严重^[2]。植物源抗菌物质广泛存在于自然界,其体内的抗菌化合物大多是植物的次生代谢产物,其原理是利用植物产生的活性物质破坏病原物的细胞质膜结构和功能、干扰质子动力势和电子传递、抑制病原菌生长,进而控制植物病害^[3-5]。由于植物源抗菌物质具有安全、无污染等优点,被认为是创制绿色杀菌剂的先导源。国内外许多学者曾先后报道了多种植物提取物对不同植物病原物的抑制作用^[6-8]。

柑橘采后损失主要是由病原真菌侵染造成,严重制约着柑橘采后的贮运以及销售。目前,柑橘贮藏期病害的防治主要依靠化学药剂,但随着药剂长期大量使用,菌株抗药性的问题日益严重,防治效果逐年下降^[9]。而有关植物源杀菌剂应用于柑橘采后病害的研究相对滞后。本文选取 30 种具有抗真菌活性的中草药,以从生产实践中发病柑橘果实上分离保存的 3 种主要病原菌作为研究对象,结合离体抑菌、活体防效和采后保鲜 3 个方面展开研究,以期筛选出对柑橘果实采后病原物抑制作用明显的植物提取物,为开发植物源柑橘防腐剂和杀菌剂奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料奥林达夏橙 (*Citrus sinensis* (L) cv. Olinda Valencia orange) 购买于贵阳市五里冲农贸市场,所选果实大小相近、色泽成熟度基本一致、无病虫害和机械损伤;供试菌种为意大利青霉 (*P. italicum*)、指状青霉 (*P. digitatum*)、柑橘链格孢 (*Alternaria citri*),由贵州大学农学院果树学实验室分离保存;供试的 30 种中草药购于贵阳一树药店,中药种类及提取部位见表 1;化学杀菌剂咪鲜胺 (25% 乳油) 购于成都新朝阳生物化学有限公司。

1.2 方法

1.2.1 中草药醇提液制备

称取 100 g 中药,装入 3 000 mL 的长颈圆底烧瓶中,加入 1 000 mL 50% 乙醇浸泡 1 h,加热回流 2 h,用 16 层纱布过滤倒出药液,待用。向药渣加入

800 mL 50% 乙醇浸泡 30 min,加热回流 1 h,合并两次滤液,用旋转蒸发仪减压浓缩,浓缩液离心后取上清液,定容至 100 mL,灭菌 (108 ℃、20 min),即得质量浓度为 1 g/mL 的中草药醇提液原液。

表 1 中药名称及提取部位
Tab.1 Chinese herb names and their extracting parts

中草药 名称	提取部位	中草药 名称	提取部位	中草药 名称	提取部位
何首乌	块根	乌梅	果实	薄荷	地上部分
虎杖	茎	玄参	根	板蓝根	根
厚朴	树皮	黄芪	根	大青叶	叶
黄柏	树皮	花椒	果皮	八角	果实
天冬	块根	山茱萸	果肉	茯苓	菌核
蛇床子	果实	白芥子	种子	栀子	果实
连翘	果实	龙胆草	茎	茴香	果实
桔梗	根	黄连	根茎	黄精	根茎
桃仁	种子	大黄	根茎	鱼腥草	全株
对叶百部	块根	牛蒡子	果实	金银花	花

1.2.2 病原菌抑制效果

采用生长速率法,测定各样品对病原菌生长速率的抑制效果^[6]。将中草药醇提液与马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA 培养基) 混合均匀制成质量浓度 0.05 g/mL 的带药培养基,倒入直径 9 cm 的培养皿中,待冷却后,将已活化且经 7 mm 打孔器处理的供试菌株菌饼接种到带药培养基中央,菌丝面朝下。以纯 PDA 培养基平板作为空白对照,并以含有咪鲜胺 (25% 乳油) 500 倍稀释液的 PDA 培养基作为阳性对照,每处理重复 3 次,置于 27℃ 恒温培养箱培养 72 h,用十字交叉法测量菌落直径。菌丝生长抑制率计算公式为

$$I = \frac{D_o - D_t}{D_t} \times 100\%$$

式中 D_o ——对照菌落直径

D_t ——处理菌落直径

根据 3 种真菌对采后柑橘果实侵染的严重程度,以意大利青霉、指状青霉、柑橘链格孢 (权重系数分别为 0.4、0.4、0.2) 计算各种中草药醇提液对 3 种致病菌的综合抑菌率。

1.2.3 最小抑菌质量浓度 (MIC) 的测定

采用倍比稀释法^[10]将综合抑菌率表现较好的中草药提取液进行稀释,分别制成质量浓度为 0.012 5、0.025、0.05、0.1、0.2 g/mL 的带药培养基,培养及测量方法同 1.2.2 节。

1.2.4 病原菌防效作用

选择对病原菌具有较强离体抗菌活性的黄连醇

提液及其最小抑菌质量浓度进行防效试验。

孢子悬浮液的制备:将各病原菌接种至 PDA 培养基上 28℃ 培养 7 d 后,分别在培养皿中加 10 mL 无菌水,用灭菌的接种环刮下孢子,用 4 层无菌纱布将洗刷液过滤到灭菌的三角瓶中,加入无菌水,充分振荡混匀,制成菌体浓度为 1×10^7 个/mL 的混合孢子悬浮液。

将所选夏橙果实用 2% 的次氯酸钠溶液消毒 2 min 后,自来水冲洗约 5 min,晾干。用接种针在果实的腰部刺 8 个伤口,将伤口表面晾干,然后分别用制备好的稀释 500 倍的咪鲜胺、0.025 g/mL 黄连醇提取液(简称黄连)和清水(简称空白)浸果 1 min,再晾干,每孔接种 3 种病原菌混合孢子悬浮液 15 μ L。待稍微晾干后,放入塑料盒中,盖上保鲜膜,存放于 25℃ 条件下培养。每个处理 3 次重复,每个重复 21 个果实。每 2 d 观察一次,并统计各处理的发病率、病情指数和防治效果。柑橘病果分级标准参考喻林华等^[11]的方法,发病率、病情指数、防治效果计算公式分别为

$$H = \frac{N_i}{N} \times 100\%$$

$$D = \frac{\sum N_i t}{NT} \times 100\%$$

$$E = \frac{I_o - I_t}{I_t} \times 100\%$$

式中 H ——发病率 N_i ——病果数
 N ——供试总果数 D ——病情指数
 N_i ——病级果个数 t ——该病级值
 T ——最高病级值 E ——防治效果
 I_o ——对照组病情指数
 I_t ——处理组病情指数

1.2.5 防腐保鲜效果

将所选夏橙果实分别用制备好的稀释 500 倍的咪鲜胺溶液(简称咪鲜胺)、0.025 g/mL 黄连醇提取液(简称黄连)和清水(简称空白)浸果 1 min,晾干后套入专用柑橘保鲜袋,分别放入铺有软纸的纸箱中,室温贮藏,每一处理设 3 次重复,每个重复约 6.5 kg 果,贮藏后每 15 d 测定一次好果率和病情指数,至贮藏 75 d 结束。病情指数测定同 1.2.4 节。好果率计算公式为

$$G = \frac{N_0 + N_1}{N} \times 100\%$$

式中 N_0 ——0 级果数 N_1 ——1 级果数

可滴定酸含量的测定采用中和法;维生素 C 含量的测定采用陆茜等^[12]的方法。

1.3 试验数据统计分析

试验结果采用 Excel 软件进行数据处理,经

DPS 统计软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 抑菌效果

表 2 结果表明:在中草药醇提物供试质量浓度为 0.05 g/mL 时,30 种中草药醇提物对供试的 3 种病原菌的生长具有不同的作用。金银花和黄连能明显抑制意大利青霉的生长,且与咪鲜胺对照相比,无显著差异($P > 0.05$);黄芪、金银花、黄柏、桔梗、牛蒡子和黄连均明显抑制指状青霉生长,其抑制率均高于 95%,甚至高达 100%,抑菌率与咪鲜胺对照相比,均无显著差异($P > 0.05$);而对于柑橘链格孢,除黄连抑菌率明显高于咪鲜胺处理($P < 0.01$),达到 100% 外,其余中草药醇提液的抑菌率均明显低于咪鲜胺处理($P < 0.01$)。此外,栀子、鱼腥草、黄精和蛇床子对意大利青霉,玄参对指状青霉,以及金银花、茯苓和花椒对柑橘链格孢的生长则具有不同程度的促进作用。

比较 30 种中草药醇提物的综合抑菌结果可知,黄连对 3 种病原菌的综合抑菌率最高,为 100%,高于咪鲜胺处理,但未达到差异显著水平($P > 0.05$),而其余中草药醇提液的综合抑菌率则显著低于咪鲜胺($P < 0.01$)。

此外,从同一中草药醇提物对 3 种病原菌的最大抑菌率与最小抑菌率的差值可知,供试的 30 种中草药醇提物对 3 种病原菌的抑菌率差值在 0 ~ 104.65 % 之间,其中黄连对 3 种病原菌的抑菌率差值最小,为 0;而金银花对 3 种病原菌的抑菌率差值最大,为 104.65 %。

2.2 主要病原菌 MIC

通过测定抑菌效果最好的黄连醇提液对柑橘采后 3 种病原菌的 MIC 可以看出(表 3),黄连醇提液对意大利青霉、指状青霉和柑橘链格孢的 MIC 分别为 0.05、0.025 和 0.1 g/mL,而对 3 种病原菌的综合 MIC 为 0.1 g/mL,且除 0.012 5 g/mL 黄连醇提液综合抑菌率明显低于其他浓度外,其余质量浓度之间无显著性差异($P > 0.05$)。因此选择 0.025 g/mL 的黄连醇提液应用于防效试验中。

2.3 中草药醇提液对主要病原菌防效作用

表 4 结果表明,各处理果实培养后对柑橘采后主要病害的防治效果各不相同,其中空白对照发病最早且发病程度最严重,处理后第 2 天已经发病,第 10 天时空白对照发病率和病情指数已达到 100% 和 82.54%,而黄连和咪鲜胺处理于培养后第 4 天仅有轻微发病症状,至第 10 天时其发病率分别为空白对照的 15.87% 和 14.29%,病情指数仅为空白对照的

表 2 中草药醇提取液和化学杀菌剂咪鲜胺对 3 种柑橘病原菌的抑制率

Tab.2 Inhibitory effects of Chinese herb alcoholic extracts on the growth of three pathogens from citrus fruits %					
中草药	意大利青霉	指状青霉	柑橘链格孢	3 种菌综合	差值
乌梅	33. 97 ± 4. 49 ^{eF}	56. 04 ± 4. 40 ^{eDE}	66. 94 ± 1. 91 ^{cC}	49. 40 ± 2. 42 ^{gF}	32. 97
梔子	−23. 66 ± 5. 38 ^{mK}	55. 24 ± 6. 67 ^{eDE}	56. 43 ± 4. 69 ^{dD}	23. 92 ± 5. 47 ^{kIJK}	80. 08
鱼腥草	−43. 01 ± 8. 40 ^{nL}	7. 62 ± 2. 52 ^{IK}	45. 00 ± 9. 12 ^{eE}	−5. 16 ± 1. 73 ^{uN}	88. 01
对叶百部	71. 43 ± 7. 78 ^{cC}	41. 71 ± 1. 71 ^{iH}	8. 76 ± 2. 63 ^{kJ}	47. 01 ± 2. 00 ^{gF}	62. 67
桃仁	16. 96 ± 1. 55 ^{ijHI}	56. 00 ± 4. 88 ^{eDE}	2. 19 ± 0. 73 ^{IK}	29. 62 ± 2. 41 ^{kI}	53. 81
金银花	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}	−4. 65 ± 2. 66 ^{mL}	79. 07 ± 0. 53 ^{cC}	104. 65
连翘	40. 18 ± 3. 22 ^{IEF}	61. 71 ± 3. 18 ^{cdCD}	51. 74 ± 0. 58 ^{dD}	51. 11 ± 2. 16 ^{IEF}	21. 54
茯苓	10. 42 ± 1. 20 ^{kIJ}	54. 10 ± 4. 73 ^{fgEF}	−6. 90 ± 0. 69 ^{mL}	24. 43 ± 1. 61 ^{kIJK}	61. 00
大青叶	24. 22 ± 3. 41 ^{hH}	32. 85 ± 5. 70 ^{jI}	23. 44 ± 0. 78 ^{ijHI}	27. 51 ± 3. 49 ^{kIJ}	9. 41
玄参	20. 14 ± 1. 25 ^{hiHI}	−18. 05 ± 3. 28 ^{mL}	20. 69 ± 1. 83 ^{ijHI}	4. 98 ± 1. 62 ^{nM}	38. 73
黄柏	89. 61 ± 3. 44 ^{bB}	95. 62 ± 2. 19 ^{aA}	64. 67 ± 0. 54 ^{cC}	87. 03 ± 1. 70 ^{bB}	30. 95
山茱萸	42. 06 ± 8. 15 ^{IEF}	68. 75 ± 2. 05 ^{bB}	53. 71 ± 1. 71 ^{dD}	55. 07 ± 4. 33 ^{cE}	26. 70
厚朴	4. 55 ± 1. 12 ^{IJ}	66. 42 ± 1. 93 ^{bcBC}	32. 07 ± 0. 54 ^{hFG}	34. 80 ± 0. 23 ^{iH}	61. 88
八角	51. 61 ^{eE}	49. 24 ± 2. 35 ^{ghFG}	42. 97 ± 0. 78 ^{efEF}	48. 93 ± 1. 00 ^{fgF}	8. 64
黄芪	71. 22 ± 3. 81 ^{cC}	96. 24 ± 0. 75 ^{aA}	24. 82 ± 1. 93 ^{iHI}	71. 95 ± 1. 28 ^{dD}	71. 42
白芥子	14. 29 ± 1. 55 ^{ijkIJ}	66. 29 ± 3. 02 ^{bcBC}	22. 54 ± 1. 41 ^{ijHI}	36. 74 ± 1. 61 ^{iGH}	52. 00
板蓝根	44. 44 ± 1. 84 ^{IE}	38. 25 ± 1. 45 ^{iH}	22. 76 ± 0. 69 ^{ijHI}	37. 63 ± 0. 42 ^{iGH}	21. 69
薄荷	25. 81 ± 5. 04 ^{hGH}	46. 67 ± 1. 36 ^{hGH}	26. 57 ± 0. 78 ^{iGH}	34. 30 ± 1. 84 ^{iH}	20. 86
花椒	14. 84 ± 0. 78 ^{ijkIJ}	53. 28 ± 2. 63 ^{fgEF}	−16. 41 ± 2. 82 ^{nM}	23. 97 ± 0. 42 ^{kIJK}	69. 69
何首乌	39. 74 ± 3. 39 ^{IEF}	70. 95 ± 0. 56 ^{bB}	32. 12 ± 0. 00 ^{hFG}	50. 70 ± 1. 42 ^{IEF}	38. 83
桔梗	76. 13 ± 1. 71 ^{cC}	95. 90 ± 0. 51 ^{aA}	10. 16 ± 2. 07 ^{kJ}	70. 84 ± 0. 49 ^{dD}	85. 74
黄精	−25. 81 ± 1. 86 ^{mK}	60. 00 ± 3. 30 ^{deCDE}	35. 71 ± 4. 95 ^{ghFG}	20. 82 ± 1. 79 ^{IK}	85. 81
大黄	32. 37 ± 1. 44 ^{gFG}	51. 13 ± 3. 28 ^{fghFG}	39. 31 ± 4. 20 ^{fgEF}	41. 26 ± 0. 37 ^{hG}	18. 75
天冬	62. 59 ± 0. 72 ^{dD}	66. 17 ± 1. 30 ^{bcBC}	26. 90 ± 1. 38 ^{iGH}	56. 88 ± 0. 52 ^{cE}	39. 27
虎杖	11. 18 ± 2. 28 ^{jkIJ}	68. 84 ± 3. 92 ^{bB}	40. 26 ± 4. 55 ^{fgEF}	40. 06 ± 2. 26 ^{hG}	57. 66
茴香	11. 54 ^{jkIJ}	25. 42 ± 0. 84 ^{kJ}	5. 84 ± 2. 53 ^{kIJK}	15. 51 ± 0. 77 ^{mL}	19. 58
龙胆草	19. 87 ± 1. 70 ^{hiHI}	65. 92 ± 2. 01 ^{bBC}	3. 65 ± 1. 26 ^{IK}	35. 05 ± 1. 67 ^{jH}	62. 27
黄连	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}	100. 00 ± 0. 00 ^{aA}	100. 00 ± 0. 00 ^{aA}	0
牛蒡子	62. 82 ± 1. 70 ^{dD}	96. 65 ± 0. 97 ^{aA}	19. 71 ± 1. 93 ^{jI}	67. 73 ± 1. 43 ^{dD}	76. 94
蛇床子	−20. 69 ± 1. 99 ^{mK}	11. 54 ± 2. 22 ^{IK}	39. 13 ± 1. 26 ^{fgEF}	4. 17 ± 1. 82 ^{nM}	59. 82
咪鲜胺(化学杀菌剂)	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}	93. 59 ± 0. 64 ^{bB}	98. 72 ± 0. 13 ^{aA}	6. 41

注:同一列大写和小写字母分别表示 0. 01 和 0. 05 差异显著水平,下同。

表 3 不同质量浓度黄连醇提液对 3 种病原菌的抑制率

Tab.3 Inhibitory effects of different mass concentration of <i>Coptis chinensis</i> extracts on the growth of three pathogens %				
质量浓度/g·mL ^{−1}	意大利青霉	指状青霉	柑橘链格孢	综合
0. 012 5	87. 32 ± 4. 23 ^{bB}	98. 80 ± 1. 20 ^{aA}	93. 51 ± 1. 62 ^{cB}	93. 15 ± 1. 46 ^{bB}
0. 025	98. 59 ± 1. 41 ^{aA}	100. 00 ^{aA}	96. 76 ^{bAB}	98. 79 ± 0. 56 ^{aA}
0. 05	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}	97. 84 ± 1. 08 ^{abA}	99. 57 ± 0. 22 ^{aA}
0. 1	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}
0. 2	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}	100. 00 ^{aA}

表 4 不同处理对柑橘采后病害的防治效果
Tab.4 Control effects of different treatments to plant diseases

参数	处理	贮藏时间/d				
		2	4	6	8	10
发病率/%	空白	20.63 ^{aA}	34.92 ^{aA}	52.38 ^{aA}	73.02 ^{aA}	100 ^{aA}
	咪鲜胺	0 ^{bB}	4.76 ^{bB}	7.94 ^{bB}	9.52 ^{bB}	14.29 ^{bB}
	黄连	0 ^{bB}	4.76 ^{bB}	7.94 ^{bB}	9.52 ^{bB}	15.87 ^{bB}
病情指数/%	空白	9.52 ^{aA}	20.24 ^{aA}	36.11 ^{aA}	54.76 ^{aA}	82.54 ^{aA}
	咪鲜胺	0 ^{bB}	1.19 ^{bB}	2.78 ^{bB}	3.97 ^{bB}	7.14 ^{bB}
	黄连	0 ^{bB}	1.19 ^{bB}	3.17 ^{bB}	3.97 ^{bB}	7.54 ^{bB}
防治效果/%	咪鲜胺	100 ^{aA}	94.12 ^{aA}	92.31 ^{aA}	92.75 ^{aA}	91.35 ^{aA}
	黄连	100 ^{aA}	94.12 ^{aA}	91.21 ^{aA}	92.75 ^{aA}	90.87 ^{aA}

9.13% 和 8.65%，防治效果达到 90% 以上。说明 0.025 g/mL 黄连醇提取液和咪鲜胺处理对 3 种病害具有良好的防治效果,但两者间无显著差异($P > 0.05$)。

2.4 中草药醇提液对夏橙采后防腐保鲜效果

2.4.1 好果率和病情指数

图 1 结果表明,夏橙贮藏期间,各处理的好果率逐渐降低,其中以空白处理的好果率降低幅度最大,至贮藏第 75 天时,其好果率分别是咪鲜胺和黄连醇提液处理的 72.9% 和 77.7%,达到差异显著水平($P < 0.01$)。整个贮藏期间咪鲜胺处理的好果率略高于黄连醇提液处理,但两者间无显著差异($P > 0.05$)。

病情指数是果实在贮藏过程中发病情况的反映,它是好果率的细化体现。由图 2 可知,夏橙贮藏期间,各处理的病情指数逐渐增加,其中以空白处理增幅最大。但在贮藏 45 d 内,各处理间无显著差异,此后,随贮藏时间的延长,不同处理间病情指数呈现明显差异,至贮藏 75 d 时,空白对照中病情指数为咪鲜胺和黄连处理的 1.83 和 1.67 倍,极显著高于后两个处理($P < 0.01$);而咪鲜胺和黄连处理间无显著差异($P > 0.05$)。表明黄连和咪鲜胺处理均能有效抑制夏橙贮藏期间微生物的感染,从而降低果实腐烂和霉变的发生,提高好果率。

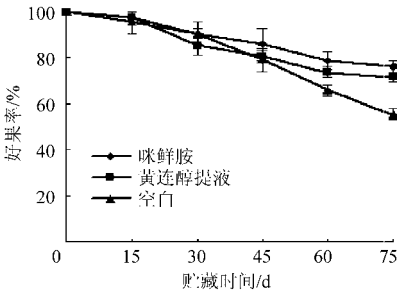


图 1 不同处理夏橙贮藏过程中好果率的变化
Fig.1 Changes of good fruit rate of Valencia orange during storage

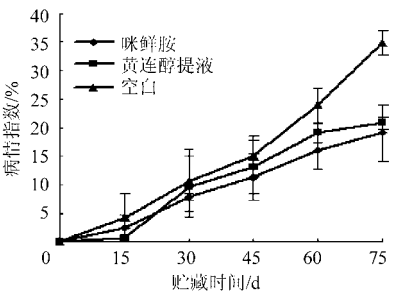


图 2 不同处理夏橙贮藏过程中病情指数的变化
Fig.2 Changes of disease index of Valencia orange during storage

2.4.2 可滴定酸和维生素 C 含量

可滴定酸是果实呼吸的重要基质,也是细胞内很多生化过程所需中间代谢物的提供者^[13]。由图 3 可以看出,由于呼吸作用的消耗使得夏橙贮藏期间的可滴定酸含量持续下降,贮藏至 75 d 时,空白对照可滴定酸含量降低至贮藏前的 56.3%,而黄连和咪鲜胺处理则分别降至贮藏前的 66.2% 和 64.8%,贮藏期间,黄连和咪鲜胺处理间可滴定酸含量无显著差异($P > 0.05$),说明黄连和咪鲜胺处理均能有效延缓贮藏期间可滴定酸含量下降,有利于果实风味的保持。

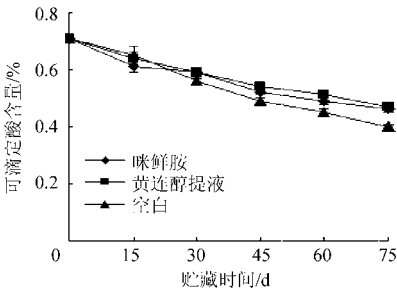


图 3 不同处理夏橙贮藏过程中可滴定酸含量的变化
Fig.3 Changes of TA content of Valencia orange during storage

维生素 C 不但是果实营养成分之一,同时也是果实内清除活性氧的一种重要的抗氧化剂,对延缓衰老有一定效果。因此,如何防止果实在贮藏期间

维生素 C 分解,保持较高维生素 C 含量显得极其重要^[14]。由图 4 可知,贮藏期间各处理夏橙中维生素 C 含量不断下降,其中空白对照中维生素 C 含量下降最快,至贮藏第 75 天时,空白对照维生素 C 含量仅为黄连和咪鲜胺处理的 72.8% 和 78.0%,达到差异显著水平($P < 0.01$),但在贮藏后 45 d 内各处理间无显著差异($P > 0.05$)。与咪鲜胺处理相比,在贮藏后期黄连处理中维生素 C 含量略高于咪鲜胺处理,但未达到差异显著水平($P > 0.05$)。说明黄连和咪鲜胺处理能有效减缓维生素 C 分解,保持果实中较高的维生素 C 含量。

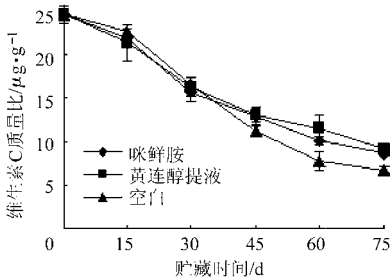


图 4 不同处理夏橙贮藏过程中维生素 C 含量的变化
Fig.4 Changes of vitamin C content of Valencia orange during storage

3 讨论

柑橘果实贮藏过程中侵染性病害是柑橘产业经济损失的主要来源之一^[15]。目前,柑橘类水果的保鲜多采用化学防腐抗菌剂浸果,再进行低温贮存或单果塑料膜包装贮存,化学保鲜剂虽能减少采后病害,但由于抗病性而又不不得不提高剂量,导致药物残留,危害人体健康^[16-17]。很多研究证实中草药具有杀菌效果^[10],但不同中草药的抑菌效果存在差异。汪倩雯等^[18]研究表明黄连对灰葡萄孢的抑制率为 85.90%,甘草的抑制率仅为 47.95%,而木香和虎杖反而具有促进孢子萌发的作用。本试验结果表明,30 种中草药醇提液对 3 种病原菌的抑制作用存在明显差异(表 2),其中黄连醇提液对 3 种真菌的抑制率最高,均达 100%;金银花、茯苓、花椒醇提液能明显抑制意大利青霉和指状青霉的生长,但却促进柑橘链格孢的生长;栀子、鱼腥草、黄精和蛇床子抑制指状青霉和柑橘链格孢的生长,却促进了意大利青霉的生长。这与李园园等^[19]和齐军山等^[20]的研究结论相吻合。这可能是由于每一种中草药都含有多种化学成分,其中存在促进供试真菌生长的活性物质,而不同的病原菌生长所需的物质有所区别,因此同一种中草药提取物对不同病原菌的生长繁殖

作用效果不同,其具体原因有待于进一步研究。

吴振宇等^[10]认为抗真菌药物的体外药敏试验结果影响因素较多,测定 MIC 值是探讨抗真菌药物的敏感性和决定应用方案的有效方法。而 Kumar 等^[21]认为为了减少杀菌剂的浪费,有必要进行杀菌剂 MIC 的测定。本研究结果表明综合抑菌效果最好的黄连醇提取物 MIC 为 0.025 g/mL(表 3),表明提取物在较低的质量浓度下就能抑制和杀死供试病原真菌,显示了较好的抑菌和杀菌活性。已有研究报道黄连汤有效成分包括小檗碱、药根碱、甘草酸、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀等,其中小檗碱对多种细菌和部分真菌具有抑制作用^[22]。究竟是小檗碱单独发挥作用,或与其他物质协同抑菌尚待研究。

高兆银等^[23]研究发现,胡椒提取物对芒果蒂腐病的离体抑菌率为 85.7%,但是在活体防效试验中表现提高发病率的趋势,丁香在离体抑菌试验时抑菌作用很强,但是对芒果采后病害的防治效果却一般。因此,在筛选天然植物保鲜剂时,不能只注重室内抑菌试验筛选结果,而有必要结合其在采后防腐的实际应用效果等进行细致深入的研究。本试验在离体研究的基础上,选择对柑橘采后 3 种主要病原菌离体抑菌效果最好的黄连进行活体防效和采后防腐保鲜试验,结果表明,黄连醇提液在活体防效和采后保鲜结果与离体抑菌试验结果具有较好的一致性,黄连醇提液除了具有明显的抑菌防腐作用外,还可在一定程度上调节果蔬的生理代谢,有效减缓可滴定酸含量的下降速率(图 3),维持较高的维生素 C 含量(图 4),提高贮藏夏橙的好果率(图 1),这与刘顺枝等^[24]和 Sivakumar 等^[25]的研究结论相吻合。

4 结束语

供试的 30 种中草药醇提取液对供试病原菌生长均有不同程度的抑制作用,其中,黄连醇提液对 3 种病原菌的抑菌率为 100%,其最小抑菌质量浓度为 0.025 g/mL;在处理第 10 天其防治效果仍高达 90.87%,明显高于空白对照($P < 0.01$);采后贮藏保鲜试验进一步表明黄连醇提取液处理能有效抑制夏橙贮藏期间微生物的感染,从而降低果实腐烂和霉变的发生,提高好果率,减少果实中可滴定酸和维生素 C 损失,与咪鲜胺处理相比,无显著差异($P > 0.05$)。说明黄连醇提液在离体抑菌、活体防效和采后防腐保鲜方面均表现出较好的效果,具有替代化学保鲜剂和开发为新农药的可行性。

参 考 文 献

- 1 Sharma R R, Singh D, Singh R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists; a review [J]. *Biological Control*, 2009, 50(3): 205 ~ 221.
- 2 胡军华, 马丽娜, 贺磊, 等. 47 种植物提取物对 3 种柑桔常见贮藏病害病原菌活性抑制作用研究[J]. *中国南方果树*, 2010, 39(3): 1 ~ 4, 8.
Hu Junhua, Ma Li'na, He Lei, et al. Antifungal activities of 47 plant extracts against three citrus post-harvest storage pathogens [J]. *South China Fruits*, 2010, 39(3): 1 ~ 4, 8. (in Chinese)
- 3 Wu Feng, Zheng Xiaodong, Chen Jiaping, et al. Combination of cassia oil with magnesium sulphate for control of postharvest storage rots of cherry tomatoes [J]. *Crop Protection*, 2008, 27(1): 112 ~ 117.
- 4 赵成爱, 孙辉, 王呈玉, 等. 6 种中草药水提物对黄瓜黑星病菌抑菌活性的室内筛选[J]. *农药*, 2010, 49(6): 453 ~ 455, 467.
Zhao Cheng'ai, Sun Hui, Wang Chengyu, et al. Inhibition screening and activity of 6 kinds of Chinese herbal medicines on *Cladosporium cucumerinum* [J]. *Agrochemicals*, 2010, 49(6): 453 ~ 455, 467. (in Chinese)
- 5 穆宏磊, 郜海燕, 陈杭君, 等. 肉桂醛复合保鲜剂对南美白对虾贮藏品质的影响[J]. *农业机械学报*, 2011, 42(6): 161 ~ 166.
Mu Honglei, Gao Haiyan, Chen Hangjun, et al. Effects of cinnamaldehyde-combined preservative on quality of pacific white shrimp during storage [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2011, 42(6): 161 ~ 166. (in Chinese)
- 6 张焱珍, 潘俊, 尚慧, 等. 77 种植物提取物对植物病原菌的生长抑制作用[J]. *天然产物研究与开发*, 2011, 23(1): 136 ~ 141.
Zhang Yanzhen, Pan Jun, Shang Hui, et al. Growth inhibitory effects of seventy seven plant extracts on plant pathogen [J]. *Natural Product Research and Development*, 2011, 23(1): 136 ~ 141. (in Chinese)
- 7 Chu Chunlung, Liu Weitang, Zhou Ting. Fumigation of sweet cherries with thymol and acetic acid to reduce post harvest brown rot and blue mold rot [J]. *Fruits*, 2001, 56(2): 123 ~ 130.
- 8 Marínez-romero D, Guillén F, Valverde J M, et al. Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in table grapes [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 115(2): 144 ~ 148.
- 9 郝卫宁, 李辉, 杨柳, 等. 茶皂素和噻菌灵混配对沙糖橘采后青绿霉菌的防治效果及品质的影响[J]. *果树学报*, 2011, 28(2): 348 ~ 352.
Hao Weining, Li Hui, Yang Liu, et al. Control efficacy against citrus green and blue mold and effects on postharvest storage quality of Shatang mandarin fruit by tea saponin combined with triabendazole [J]. *Journal of Fruit Science*, 2011, 28(2): 348 ~ 352. (in Chinese)
- 10 吴振宇, 艾启俊, 王燕, 等. 中草药提取物对几种果蔬采后病原真菌的离体抑制作用[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(5): 294 ~ 298.
Wu Zhenyu, Ai Qijun, Wang Yan, et al. Studies on inhibitory effects in-vitro of herbal extracts against postharvest pathogenic fungi from fruits and vegetables [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(5): 294 ~ 298. (in Chinese)
- 11 喻林华, 李晓烈, 蓝华, 等. 银杏叶提取物对柑橘青霉病菌的抑菌效果[J]. *食品与机械*, 2010, 26(6): 60 ~ 62.
Yu Linhua, Li Xiaolie, Lan Hua, et al. Effect of bacteriostatic on *Penicillium italicum* stored citrus by using the extracts of *Ginkgo biloba* leaves [J]. *Food & Machinery*, 2010, 26(6): 60 ~ 62. (in Chinese)
- 12 陆茜, 陈凤群, 万昆. 紫外分光光度法测定维生素 C 含量[J]. *江汉大学学报: 自然科学版*, 2005, 33(2): 68 ~ 69.
Lu Qian, Chen Fengqun, Wan Kun. The determination of ascorbate by ultraviolet spectrophotometry [J]. *Journal of Jiangnan University: Natural Sciences*, 2005, 33(2): 68 ~ 69. (in Chinese)
- 13 陈文烜, 郜海燕, 陈杭君, 等. 减压贮藏对软溶质水蜜桃采后生理和品质的影响[J]. *农业机械学报*, 2010, 41(9): 108 ~ 112.
Chen Wenxuan, Gao Haiyan, Chen Hangjun, et al. Effects of hypobaric storage on postharvest physiology and quality of flesh-melting textured juicy peach [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2010, 41(9): 108 ~ 112. (in Chinese)
- 14 周慧娟, 乔勇进, 王海宏, 等. 臭氧处理对宫川柑橘保鲜效果的影响[J]. *保鲜与加工*, 2010, 10(3): 12 ~ 16.
Zhou Huijuan, Qiao Yongjin, Wang Haihong, et al. Effects of ozone treatment on fresh-keeping effectiveness of gongchuan orange [J]. *Storage and Process*, 2010, 10(3): 12 ~ 16. (in Chinese)

- 15 丘麒, 罗建军, 施楚新, 等. 21种植物提取物对3种柑桔病原真菌抑菌活性的初步研究[J]. 安徽农业大学学报, 2008, 35(1): 42~45.
Qiu Qi, Luo Jianjun, Shi Chuxin, et al. Antifungal activity of extracts from 21 species plants against the three pathogenic fungi of citrus [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2008, 35(1): 42~45. (in Chinese)
- 16 Rojas-arudo C, Ángel Del Río M, Montesinos-Herrero C, et al. Effects of CO₂ and O₂ shocks at high temperature on postharvest quality of cold-stored citrus fruit[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2010, 45(10): 2 062~2 070.
- 17 杨月, 陆丹英, 凌静, 等. 交联木薯淀粉对蜜橘涂膜保鲜效果研究[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 275~278.
Yang Yue, Lu Danying, Ling Jing, et al. Effect of cross-linked cassava starch film on preservation of Mandarin oranges [J]. Food Science, 2011, 32(6): 275~278. (in Chinese)
- 18 汪倩雯, 汪琨, 杨霄, 等. 89种中草药醇提物体外抗菌活性的研究[J]. 浙江工业大学学报, 2009, 37(3): 289~294.
Wang Qianwen, Wang Kun, Yang Xiao, et al. Studies on antifungal activity of ethanol extracts from 89 traditional Chinese medicines[J]. Journal of Zhejiang University of Technology, 2009, 37(3): 289~294. (in Chinese)
- 19 李园园, 郝双红, 王大伟, 等. 侧柏乙醇提取物对21种植物病原真菌的抑菌活性[J]. 西北植物学报, 2008, 28(5): 1 056~1 060.
Li Yuanyuan, Hao Shuanghong, Wan Dawei, et al. Antifungal activity of ethanol extract from platycladus orientalis [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2008, 28(5): 1 056~1 060. (in Chinese)
- 20 齐军山, 陈靠山, 李美, 等. 40种杂草的丙酮提取物对3种植物病原真菌的抑菌活[J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(3): 49~52.
Qi Junshan, Chen Kaoshan, Li Mei, et al. Antifungal activity of acetone extracts from forty weeds against three phytopathogenic fungi [J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2008, 17(3): 49~52. (in Chinese)
- 21 Kumar A, Shukla R, Singh P, et al. Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2008, 9(4): 575~580.
- 22 纪丽莎, 殷红福, 汪丽芬, 等. 黄连汤有效部位对鸭疫里氏杆菌的抑菌率[J]. 浙江林学院学报, 2010, 27(5): 745~749.
Ji Lisha, Yin Hongfu, Wang Lifen, et al. Inhibitory rate of a coptidis rhizoma decoction against *Riemerella anatipestifer* bacteria [J]. Journal of Zhejiang Forestry College, 2010, 27(5): 745~749. (in Chinese)
- 23 高兆银, 胡美姣, 李敏, 等. 中草药提取物对2种芒果采后病原菌的抑菌活性[J]. 热带作物学报, 2008, 29(1): 83~88.
Gao Zhaoyin, Hu Meijiao, Li Min, et al. Inhibitory activity of Chinese herbs extracts against 2 postharvest pathogens of mango [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2008, 29(1): 83~88. (in Chinese)
- 24 刘顺枝, 马斌, 陈安安, 等. 中草药提取液对砂糖橘保鲜效果的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 462~465.
Liu Shunzhi, Ma Bin, Chen An'an, et al. Study on fresh-keeping effect of Chinese herbal medicine extract on "Shatang" Mandarin [J]. Food Science, 2008, 29(7): 462~465. (in Chinese)
- 25 Sivakumar D, Wilson Wijeratnama R S, Wijesunsunderab R L C, et al. Control of postharvest diseases of rambutan using cinnamaldehyde [J]. Crop Protection, 2002, 21(9): 847~852.